

LAMPIRAN 1. Hasil Penentuan λ Optimum , Kurva Standar, dan Rumus

Kurva Standar untuk Glukosa dan Kasein

Tabel 1.1. Hasil Penentuan λ Optimum Larutan Standar Glukosa

No	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
		A ₁	A ₂	A ₃	
1	500	0,096	0,096	0,0967	0,09623
2	510	0,182	0,182	0,1820	0,18200
3	520	0,187	0,187	0,1880	0,18730
4	530	0,182	0,182	0,1830	0,18233
5	540	0,181	0,182	0,1820	0,18160
6	550	0,177	0,177	0,1770	0,17700
7	560	0,173	0,172	0,1730	0,17266

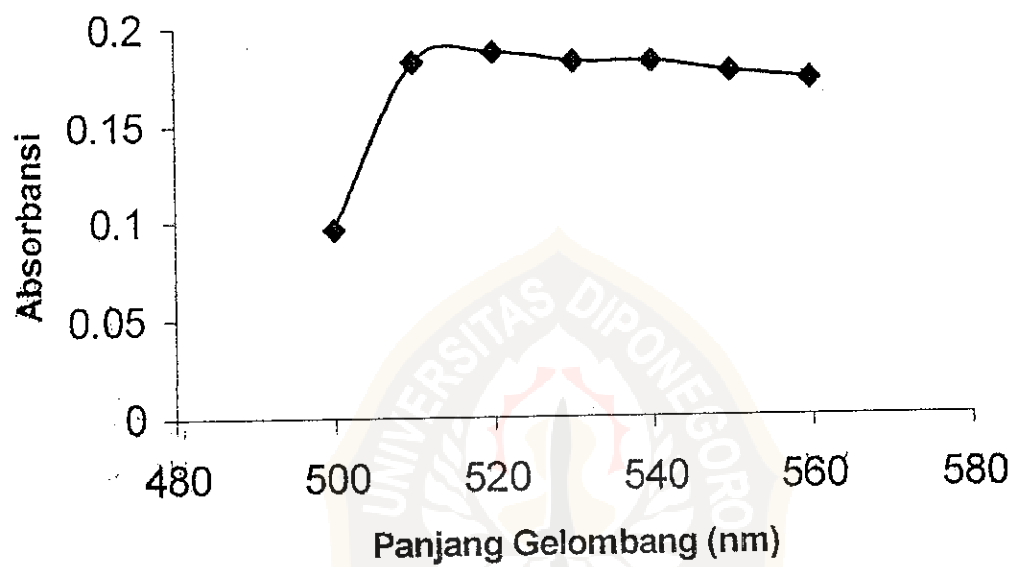
Tabel 1.2. Hasil Penentuan Kurva Standar Glukosa

No	Konsentrasi (mg/100mL)	Absorbansi (520 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak
		A ₁	A ₂	A ₃			
1	0,0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,2	0,1180	0,1200	0,1160	0,1180	0,0503	0,0677
3	0,6	0,1700	0,1710	0,1710	0,1706	0,0503	0,1203
4	1,0	0,1967	0,1968	0,1969	0,1968	0,0503	0,1465
5	1,4	0,2208	0,2208	0,2208	0,2208	0,0503	0,1705
6	1,8	0,2643	0,2643	0,2644	0,2642	0,0503	0,2139

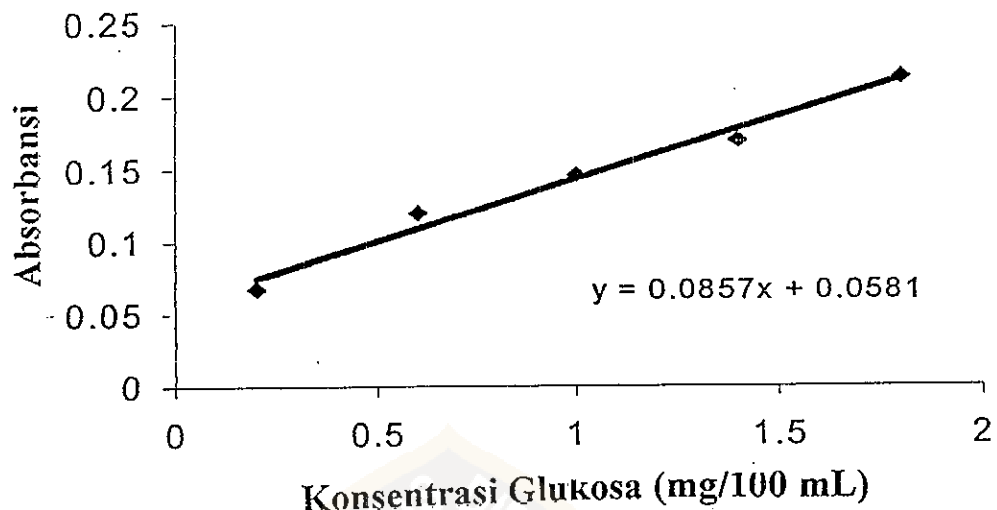
Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Grafik 1.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Glukosa



Grafik 1.2. Hasil Penentuan Kurva Standar Glukosa



Hasil Penentuan Rumus Kurva Standar Glukosa pada panjang gelombang 520 nm secara grafik dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi. Diperoleh rumus kurva standar sebagai berikut:

$$Y = 0,0857X + 0,0581$$

Keterangan: 0,0857 = slope

0,0581 = intersep

Sehingga untuk menentukan kadar glukosa digunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{Y - 0,0581}{0,0857} \times \frac{V_{tot}}{V_{enz}} \times \frac{V_{smp}}{V_{anls}} \times \frac{1}{180} \times \frac{1000}{100}$$

Dimana : X = Konsentrasi Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)

Y = absorbansi

V_{tot} = Volume substrat, enzim dan bufer (5mL)

V_{enz} = Volume enzim (0,1mL)

V_{smp} = Volume sampel (5mL)

V_{anls} = Volume analisa (0,1mL)



Tabel 1.3. Hasil Penentuan λ Optimum Larutan Standar Kasein

No	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
		A ₁	A ₂	A ₃	
1	550	0,108	0,108	0,109	0,10833
2	555	0,109	0,109	0,109	0,10900
3	560	0,110	0,110	0,111	0,11033
4	565	0,111	0,111	0,111	0,11100
5	570	0,113	0,112	0,112	0,11233
6	575	0,114	0,114	0,115	0,11366
7	580	0,115	0,115	0,115	0,11500
8	585	0,116	0,116	0,116	0,11600
9	590	0,116	0,116	0,116	0,11600
10	595	0,117	0,117	0,116	0,11660
11	600	0,118	0,118	0,119	0,11833
12	605	0,119	0,119	0,119	0,11900
13	610	0,120	0,120	0,121	0,12033
14	615	0,121	0,121	0,120	0,12066
15	620	0,123	0,123	0,123	0,12300
16	625	0,124	0,123	0,124	0,12360
17	630	0,126	0,126	0,127	0,12630
18	635	0,125	0,125	0,124	0,12460
19	640	0,125	0,124	0,124	0,12430
20	645	0,121	0,1200	0,120	0,1206
21	650	0,120	0,120	0,121	0,1203

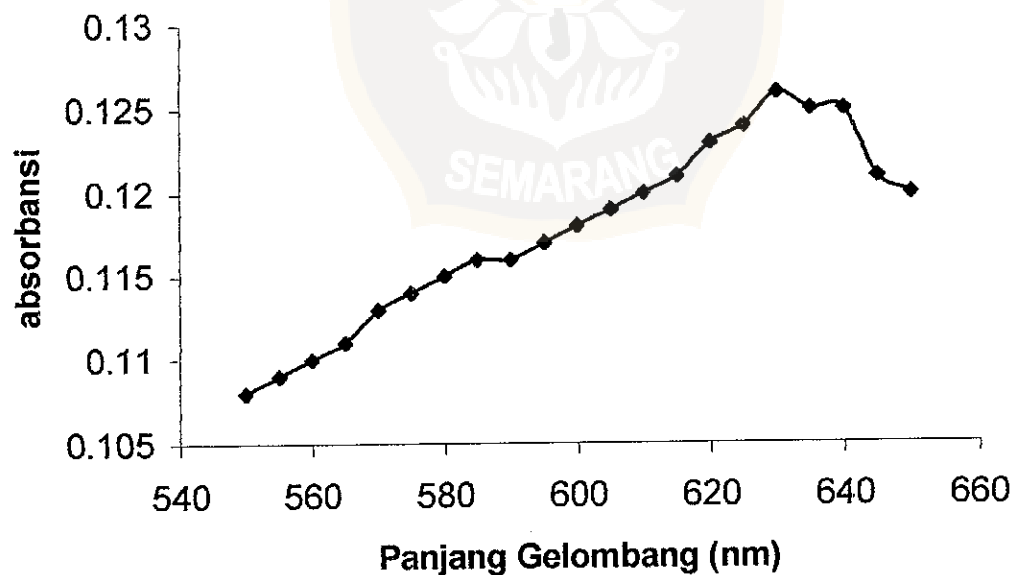
Tabel 1.4. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (630 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak
		A ₁	A ₂	A ₃			
1	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	80	0,096	0,096	0,095	0,0956	0,032	0,0636
3	100	0,121	0,121	0,120	0,1206	0,032	0,0886
4	120	0,128	0,127	0,127	0,1273	0,032	0,0953
5	160	0,132	0,132	0,131	0,1316	0,032	0,0997
6	200	0,136	0,135	0,135	0,1353	0,032	0,1033

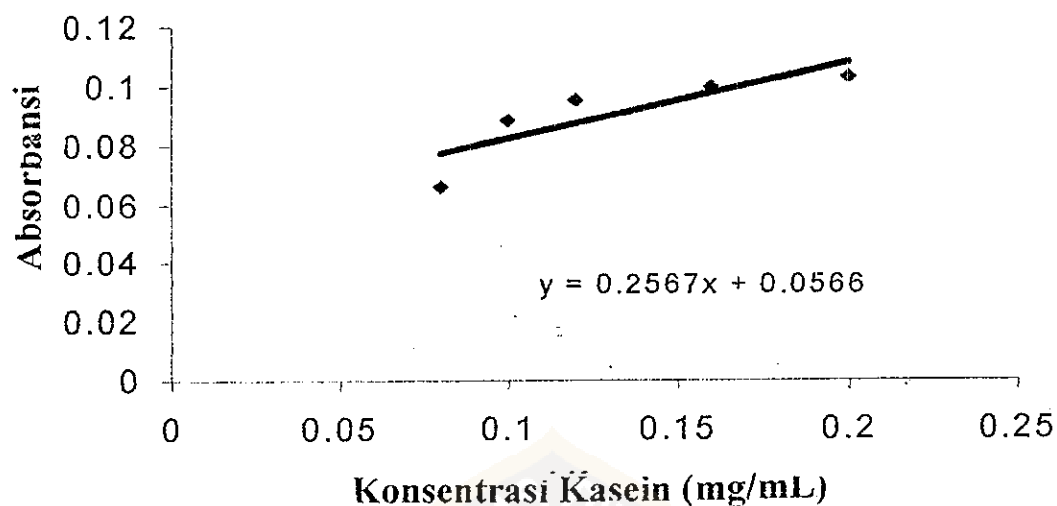
Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Grafik 1.3. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Kasein



Grafik 1.4. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein



Hasil Penentuan Rumus Kurva Standar Kasein pada panjang gelombang 630 nm. Secara grafik dengan sumbu Y sebagai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi. Diperoleh rumus kurva standar protein sebagai berikut:

$$Y = 0,2567x + 0,0566$$

Keterangan: 0,2567 = slope

0,0566 = intersep

Sehingga untuk menentukan kadar protein digunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{y - 0,0566}{0,2567} \times fp$$

Keterangan : X = konsentrasi protein enzim (mg/mL)

Y = absorbansi

Fp = faktor pengenceran

LAMPIRAN 2. Hasil Penentuan Fraksi Optimum

Tabel 2.1. Hasil Penentuan Kadar Glukosa Setiap Fraksi

No	Kode	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	EK	0,100	0,100	0,099	0,0966	0,0350	0,0646	10,53
2	F ₁	0,099	0,100	0,099	0,0993	0,0400	0,0593	1,9446
3	F ₂	0,125	0,126	0,126	0,1256	0,0490	0,0766	29,979
4	F ₃	0,092	0,093	0,092	0,0923	0,0245	0,0678	15,7192
5	F ₄	0,114	0,113	0,112	0,1130	0,0520	0,0610	4,6995
6	F ₅	0,103	0,103	0,104	0,1033	0,0450	0,0583	0,3240

Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 2.2. Hasil Penentuan Kadar Protein

No	Kode	Absorbansi (630 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Protein (mg/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	EK	0,170	0,171	0,170	0,1703	0,032	0,1383	31,83
2	F ₁	0,120	0,127	0,126	0,1263	0,032	0,0943	14,674
3	F ₂	0,316	0,315	0,315	0,3153	0,032	0,2833	8,830
4	F ₃	0,429	0,429	0,428	0,4286	0,032	0,3966	1,3247
5	F ₄	0,407	0,407	0,408	0,4073	0,032	0,3753	1,2416
6	F ₅	0,422	0,423	0,422	0,4223	0,032	0,3903	1,300

Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 2.3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik Setiap Fraksi

No	Kode	Unit aktivitas (μmol glukosa/ mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (μmol glukosa/ mg)	Tingkat Kemurnian
1	EK	10,53	31,83	0,3308	1
2	F ₁	1,9446	14,674	0,1320	0,399
3	F ₂	29,979	8,830	3,395	10,262
4	F ₃	15,7192	1,3247	11,8662	35,87
5	F ₄	4,6995	1,2416	3,7850	11,44
6	F ₅	0,324	1,306	0,2492	0,753

Keterangan:

EK = Ekstrak Kasar Enzim

F₁ = Fraksi 1 (kejenuhan 0-10%)

F₂ = Fraksi 2 (kejenuhan 10-30%)

F₃ = Fraksi 3 (kejenuhan 30-50%)

F₄ = Fraksi 4 (kejenuhan 50-70%)

F₅ = Fraksi 5 (kejenuhan 70-100%)

LAMPIRAN 3. pH Optimum Pada F₃

Tabel 3.1. Hasil Penentuan Kadar Glukosa Pada F₃

No	pH	Absorbansi (520 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	5,7	0,110	0,111	0,111	0,1106	0,0570	0,0536	6,435
2	5,9	0,115	0,115	0,116	0,1153	0,0614	0,0539	6,884
3	6,0	0,125	0,125	0,125	0,1250	0,0710	0,0540	7,030
4	6,1	0,145	0,145	0,146	0,1453	0,0851	0,0602	16,300
5	6,3	0,137	0,136	0,136	0,1363	0,0816	0,0547	8,080
6	6,5	0,127	0,128	0,128	0,1276	0,0734	0,0542	7,330
7	6,7	0,113	0,113	114	0,1133	0,0595	0,0538	6,730

Keterangan: As: Absorbansi sampel
Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 3.2. Hasil Penentuan Kadar Protein

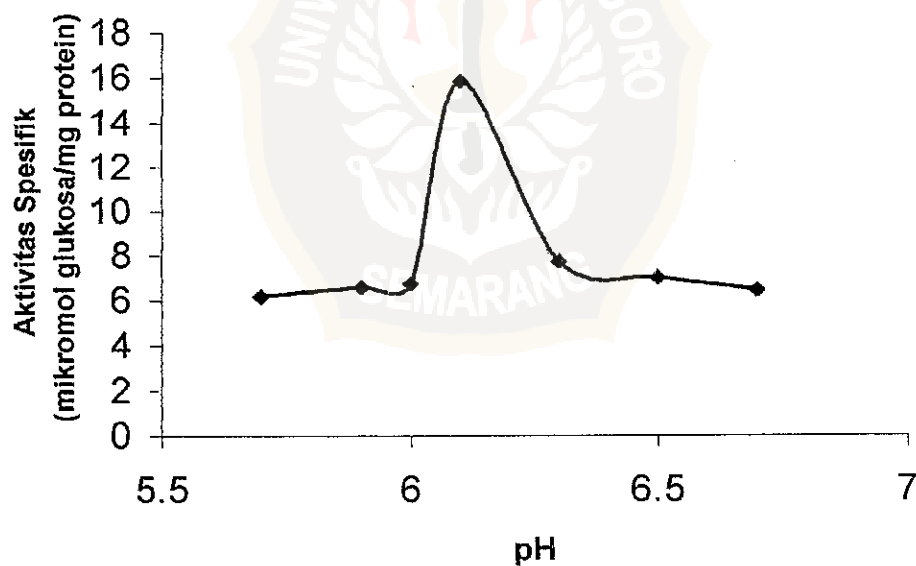
No	Fraksi	Absorbansi (630 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi Kontrol	As-Ak	Protein (mg/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	F ₃	0,411	0,412	0,415	0,4126	0,033	0,3796	1,0460

Keterangan: As: Absorbansi sampel
Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 3.3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai pH

No	pH	Unit Aktivitas (μmol glukosa/ml)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (μmol glukosa /mg)
1	5,7	6,435	1,0460	6,1520
2	5,9	6,884	1,0460	6,5812
3	6,0	7,030	1,0460	6,72084
4	6,1	16,300	1,0460	15,8317
5	6,3	8,080	1,0460	7,7246
6	6,5	7,330	1,0460	7,0076
7	6,7	6,730	1,0460	6,4340

Grafik 3.1. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai pH



LAMPIRAN 4. Suhu Optimum Pada F₃ (pH=6,1)

4.1. Hasil Penentuan Suhu Optimum Pada F₃ (pH=6,1)

No	Suhu (°C)	Absorbansi (520 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Glukosa (μmol/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	45	0,108	0,108	0,109	0,1083	0,0543	0,0540	7,0337
2	55	0,114	0,115	0,115	0,1146	0,0602	0,0544	7,6324
3	60	0,128	0,129	0,130	0,1290	0,0743	0,0547	8,0813
4	65	0,140	0,140	0,141	0,1403	0,0804	0,0599	15,8634
5	70	0,136	0,137	0,137	0,1366	0,0839	0,0527	5,0880
6	80	0,127	0,128	0,127	0,1273	0,0755	0,0517	3,7413

Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 4.2. Hasil Penentuan Kadar Protein

No	Fraksi	Absorbansi (630 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Protein (mg/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	F ₃	0,411	0,412	0,415	0,4126	0,033	0,3796	1,0460

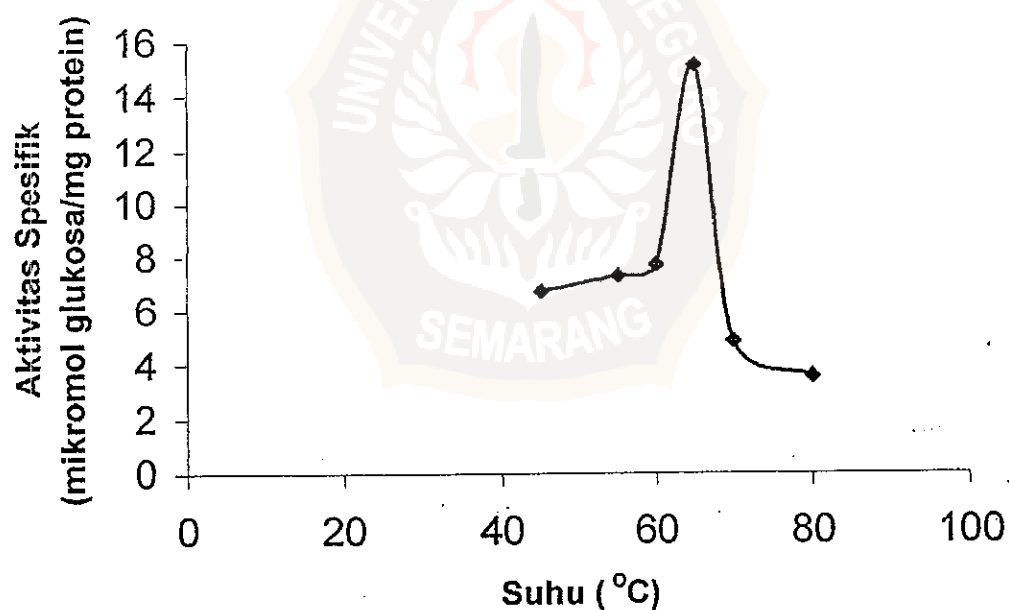
Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 4.3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai Temperatur

No	Suhu (°C)	Unit Aktivitas ($\mu\text{mol glukosa /mL}$)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik ($\mu\text{mol glukosa /mg}$)
1	45	7,0337	1,0460	6,7243
2	55	7,6324	1,0460	7,2967
3	60	8,0813	1,0460	7,7259
4	65	15,8634	1,0460	15,1657
5	70	5,0880	1,0460	4,8642
6	80	3,7413	1,0460	3,5767

Grafik 4.1. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai Temperatur



LAMPIRAN 6. Waktu Inkubasi Optimum Pada F₃
(pH = 6,1 dan T = 65 °C)

Tabel 6.1. Hasil Penentuan Kadar Glukosa

No	Waktu (mnt)	Absorbansi (520 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Glukosa (μ mol/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	5	0,089	0,090	0,090	0,0896	0,380	0,0516	3,4420
2	10	0,111	0,111	0,112	0,1113	0,0567	0,0546	7,9317
3	15	0,115	0,116	0,116	0,1156	0,0601	0,0555	9,2786
4	30	0,127	0,128	0,127	0,1273	0,0669	0,0601	16,6117
5	45	0,120	0,120	0,119	0,1196	0,0639	0,0557	9,5779
6	60	0,109	0,108	0,108	0,1083	0,0540	0,543	7,4827

Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 6.2. Hasil Penentuan Kadar Protein

No	Fraksi	Absorbansi (630 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi kontrol	As-Ak	Protein (mg/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1	F ₃	0,411	0,412	0,415	0,4126	0,033	0,3796	1,0460

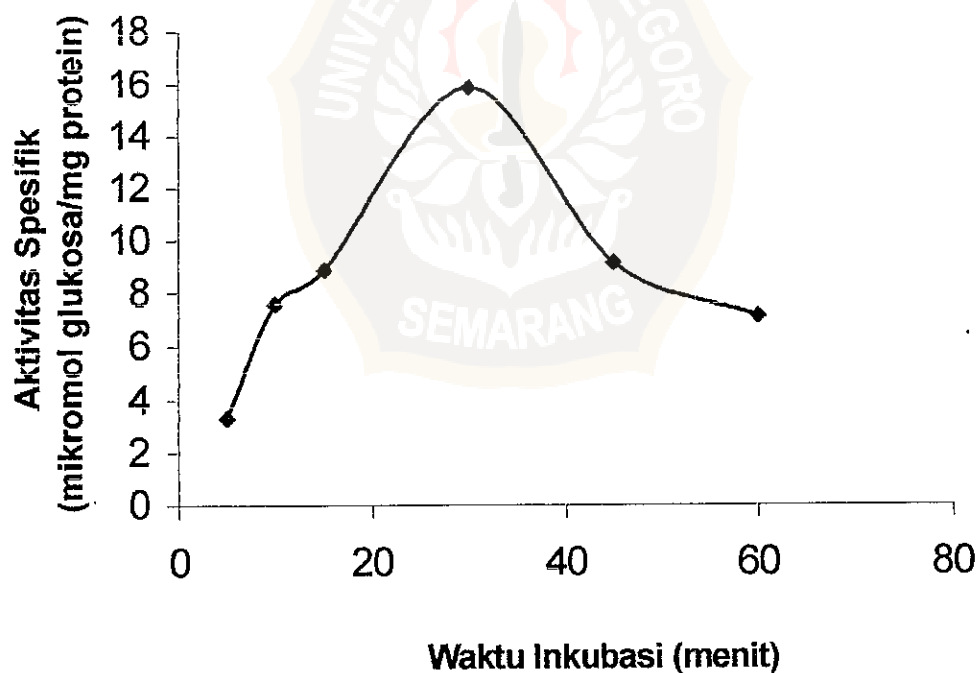
Keterangan: As: Absorbansi sampel

Ak: Absorbansi kontrol

Tabel 6.3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai Waktu Inkubasi

No	Waktu (mnt)	Unit Aktivitas ($\mu\text{mol glukosa/mL}$)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik ($\mu\text{mol glukosa /mg}$)
1	5	3,4420	1,0460	3,2906
2	10	7,9317	1,0460	7,5828
3	15	9,2786	1,0460	8,8705
4	30	16,6117	1,0460	15,8811
5	45	9,5779	1,0460	9,1566
6	60	7,4827	1,0460	7,1536

Grafik 6.1. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai Waktu Inkubasi



LAMPIRAN 6. Pembuatan Bufer Fosfat

Larutan A : 0,2 M Larutan Na-fosfat monobasis (7,8 gram dalam 1000 mL)

Larutan B : 0,2M Larutan Na-fosfat dibasis (52.65 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ atau 71,7 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 mL)

XmL Larutan A + Y ml Larutan B, encerkan sampai 200 mL

X	Y	pH	X	Y	pH
93,5	6,5	5,7	45,0	45,0	6,9
92,0	8,0	5,8	39,0	61,0	7,0
90,0	10,0	5,9	32,0	67,0	7,1
87,7	12,3	6,0	28,0	72,0	7,2
85,0	15,0	6,1	23,0	77,0	7,3
81,5	18,5	6,2	19,0	81,0	7,4
77,5	22,5	6,3	16,0	84,0	7,5
73,5	26,5	6,4	13,0	87,0	7,6
68,5	31,5	6,5	10,5	89,5	7,7
62,5	37,5	6,6	8,5	91,5	7,8
56,5	43,5	6,7	7,0	93,0	7,9
51,0	49,0	6,8	5,3	94,7	8,0

Lampiran 7 Daftar Kebutuhan Ammonium Sulfat

Tabel 1. Jumlah penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dalam gram/liter larutan enzim pada konsentrasi yang berbeda

Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10	20	25	30	33	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100
0	56	114	144	176	196	209	243	277	313	351	390	420	472	516	561	662	767
10		57	86	118	137	150	183	216	251	288	326	365	406	449	494	592	694
20			29	59	78	91	123	155	189	225	262	300	340	382	424	520	619
25				30	49	61	83	125	158	193	230	267	307	348	390	485	583
30					19	30	62	94	127	162	198	235	273	314	356	449	546
33						12	43	74	107	142	177	214	252	292	333	426	522
35							31	63	94	129	164	200	238	278	319	411	506
40								32	63	97	132	168	205	245	285	375	469
45									32	65	99	134	171	210	250	339	431
50										33	66	101	137	176	214	302	392
55											33	67	103	141	179	264	353
60												34	69	105	143	227	314
65													34	70	107	190	275
70														35	75	153	237
75															36	115	198
80																77	157
90																	79